

大腸がんにおける miR-29a-3p/Fem1B/Gli1 経路を介した薬剤耐性機構の解析

SATテクノロジー・ショーケース2026

■ はじめに

大腸がんは世界的に罹患率および死亡率の高い悪性腫瘍であり、日本ではがんの中で大腸がんの罹患数が1番多く、死亡者数は2番目に多い。

大腸がんの進行や再発例においては、薬剤耐性が治療効果を著しく低下させることが重大な課題となっている。現在、大腸がん治療には複数の化学療法剤が用いられているが、初期効果がみられても最終的に薬剤耐性が生じ、再発や治療失敗に至る症例が少なくない。

近年、Yi-Chen Suらによってオキサリプラチン耐性を獲得した大腸がん細胞において、miR-29a-3p/FEM1B/Gli1経路を介した薬剤耐性機構が明らかにされた。具体的にはmiR-29a-3p/Fem1B/Gli1経路はmiR-29a-3pの発現上昇によりFem1Bが抑制され、Gli1が蓄積し、大腸がんにおいてオキサリプラチン耐性をもたらす経路である。彼らの研究では、オキサリプラチン耐性細胞株においてmiR-29a-3pの発現が顕著に上昇していることが確認された。

miR-29a-3pは、ユビキチンリガーゼ複合体の基質認識因子であるFem1Bを標的として抑制してその発現量を低下させる。通常、Fem1BはGli1という転写因子をユビキチン化し、プロテアソーム依存的な分解を促進する役割を持つ。しかし、miR-29a-3pの過剰発現によってFem1Bの量が減少すると、Gli1の分解が抑えられ、細胞内におけるGli1の蓄積が生じる。このGli1の増加は、DNA損傷修復能の亢進やアポトーシス回避を引き起こし、結果としてオキサリプラチンによる細胞死を免れる耐性表現型を形成することが明らかにされた。

しかし、このmiR-29a-3p/Fem1B/Gli1経路がオキサリプラチン(白金製剤)以外の抗がん剤に対しても同様に耐性獲得に寄与するかどうかについては、十分に検討されていない。そこで本研究では、オキサリプラチンとは作用機序が異なる抗がん剤(フルオロウラシル)を用い、miR-29a-3p経路が薬剤耐性に及ぼす影響を検討する。これにより、この経路の普遍性を評価し、がん細胞が様々な薬剤に適応、抵抗する際の共通基盤を明らかにすることを目的とする。

■ 活動内容

1. 実験方法

本実験ではヒト大腸がん由来細胞株であるCOLO205細胞を10%ウシ胎児血清、ペニシリン・ストレプトマイシン溶液を含むRPMI1640培地で二酸化炭素濃度5%、温度37℃で培養した。その後、48ウェルプレートに10⁵個の

COLO205細胞を播種し24時間ごとにトリパンプブルー染色法を用いて生細胞数、死細胞数、総細胞数、生存率を計測した。これを3回行い再現性を確認した。結果は図1に示した。

図1は COLO205 細胞の総細胞数の時間経過における細胞数の変化を示したグラフである。このグラフから細胞は播種してから 72 時間まではほぼ直線的に増殖しており、対数増殖期であることが示された。一方で、72 時間以降の増加はほとんどみられずほぼ一定になっていることから定常期であることが示された。また、倍加時間は約 18.2 時間であることが分かった。

2. 今後の展開

COLO205細胞に対するフルオロウラシルの細胞毒性(CC₅₀)を調べる。

次に、フルオロウラシルに耐性をもつ細胞を作成し、miR-29a-3pの発現を検討する。

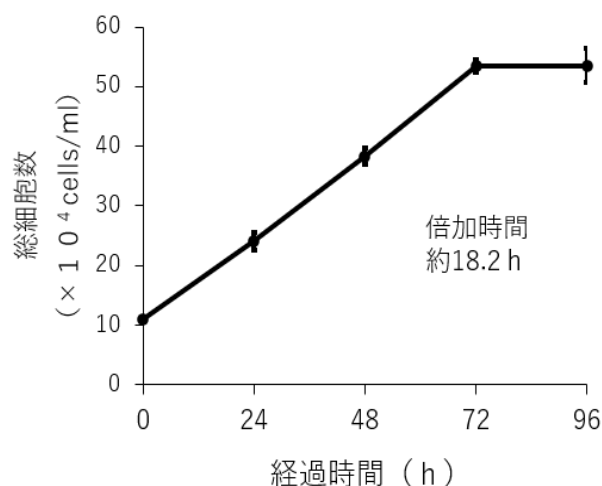


図1 総細胞数の経時変化

代表発表者 大平 拓監(おおひら たくみ)
所属 千葉工業大学 先進工学部生命科学科
遺伝子制御学研究室

問合せ先 〒275-0016 千葉県習志野市津田沼 2-17-1
TEL: 047-478-0414
s22c2028vn@s.chibakoudai.jp

■キーワード: (1) 大腸がん
(2) フルオロウラシル
(3) 細胞培養